

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication :
(A n'utiliser que pour les
commandes de reproduction).

2 444 497

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 79 30846

(54) Procédé de micro-encapsulation.

(91) Classification internationale. (Int. Cl 3) B 01 J 13/02.

(22) Date de dépôt 17 décembre 1978.

(39) (32) (31) Priorité revendiquée : *Demandes de brevets déposées en Grande-Bretagne le 19 décembre
n. 49.034/1978 et le 24 octobre 1978, n. 36.873/1979.*

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande B.O.P.I. — «Listes» n. 29 du 18-7-1980.

(71) Déposant : MARS, INCORPORATED, résident aux Etats-Unis d'Amérique.

(72) Invention de : David A. Jones.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Cabinet Regimbeau, Corre, Martin et Schrimpf, 26, avenue Kléber,
75116 Paris.

La présente invention concerne des procédés de micro-encapsulation et plus particulièrement des procédés pour encapsuler de fines gouttelettes d'un liquide hydrophile dans une phase continue hydrophobe.

Il a été proposé dans la technique antérieure de produire des microcapsules contenant des solutions aqueuses d'amines en émulsionnant la solution aqueuse dans un liquide organique à l'aide d'un agent tensio-actif approprié et en formant une membrane de polymère autour des gouttelettes par polymérisation interfaciale. Par exemple, il a été proposé d'ajouter du chlorure de sébacoylène à la phase continue de manière à produire une membrane de polyamide ou d'ajouter un polyisocyanate à la phase continue de manière à produire une membrane de polyuréthane. Une fois les microcapsules produites, il est fréquemment souhaitable de remplacer le liquide hydrophobe constituant la phase continue par un liquide hydrophile, spécialement de l'eau. Cela s'effectue normalement en éliminant par décantation ou par centrifugation la majeure partie du liquide hydrophobe et en lavant et redispersant les microcapsules plusieurs fois dans un liquide hydrophile contenant de grandes quantités d'agent tensio-actif.

Dans les procédés proposés dans la technique antérieure, on doit prendre certaines précautions pour éviter l'aggrégation des microcapsules, spécialement au stade du changement de phase du procédé dans lequel les capsules sont proches les unes

des autres et, par exemple, des groupes chlorure d'acide libres dans la membrane de polymère d'une capsule peuvent se condenser avec, par exemple, des groupes amino libres résiduels dans la membrane de polymère d'une deuxième capsule de manière à former des liaisons chimiques entre les capsules.

Selon la technique antérieure, il est nécessaire d'utiliser de basses températures de l'ordre de 0°C (la réaction est normalement conduite dans un bain de glace) dans le stade de micro-encapsulation, d'ajouter le chlorure d'acide rapidement et de maintenir le temps de réaction entre des limites étroites et, au stade de changement de phase, d'effectuer le changement, qui termine la polymérisation, aussi rapidement que possible après que la réaction de polymérisation s'est produite dans la mesure désirée.

Pour de nombreuses utilisations des microcapsules, il est essentiel d'éliminer complètement l'agent tensio-actif de changement de phase une fois que les capsules sont capables de suspension satisfaisante dans l'eau. L'élimination complète est exceptionnellement difficile et comporte en général de nombreuses heures de lavages répétés.

Jusqu'à présent, on pensait dans la technique antérieure qu'il était essentiel d'utiliser comme phase hydrophobe un solvant ayant un degré de polarité tel qu'une quantité mineure du constituant amine se diffuse à partir des gouttelettes émulsionnées pour devenir disponible pour réaction avec, par exemple, un chlorure d'acide pour former la membrane de polymère. Ainsi, par exemple, dans des réactions de polymérisation interfaciale dans lesquelles un constituant amine protéique est polymérisé par réaction avec du chlorure de sébacyle, le solvant

utilisé pour la phase hydrophobe (et dans lequel le chlorure de sébacoyl est commodément introduit dans l'émulsion) est habituellement un mélange de cyclohexane et de chloroforme dans un rapport en poids de 3:1 ou de 4:1 ou un solvant de polarité similaire qui a un faible pouvoir dissolvant en ce qui concerne le constituant amine.

On a trouvé fréquemment quand on opère de cette manière que les parois des microcapsules sont épaisses, rugueuses et fragiles, ce qui rend difficile de les débarrasser du solvant et entraîne des rendements médiocres en capsules. L'effet est particulièrement sensible quand on utilise un constituant amine riche en protéines.

La présente invention est basée sur l'observation inattendue qu'il est possible de provoquer une réaction de polymérisation interfaciale réellement à l'interface d'une phase hydrophile et d'une phase hydrophobe sans aucune diffusion importante du constituant amine dans la phase hydrophobe.

La présente invention fournit un procédé pour la production de microcapsules contenant une solution aqueuse d'une protéine hydrophyle contenant une multiplicité des groupes amine libres, caractérisé en ce qu'on forme une émulsion de la solution aqueuse de protéine comme phase dispersée dans un solvant sensiblement non-polaire comme phase continue et on ajoute à l'émulsion une solution d'un composé contenant une multiplicité de groupes capables de réagir avec les groupes amine pour former un polymère, spécialement pour former un polyamide.

Comme exemples de solvants sensiblement non-polaires, on peut mentionner le cyclohexane, le n-décane, un éther de pétrole 40/60 et d'autres solvants présentant une absence similaire de polarité.

Le cyclohexane seul constitue un véhicule idéal pour des chlorures d'acide comme les chlorures de sébacoyl et d'adipoyl. Il empêche aussi une diffusion rapide de la protéine à partir de la phase aqueuse durant le stade primaire d'émulsion. Il peut être nécessaire aussi quand on utilise certains corps en réaction comme l'anhydride succinique, qui ne sont pas solubles par exemple dans le cyclohexane pur, d'utiliser un solvant mixte ayant un constituant polaire dans lequel le corps en réaction est soluble. Dans ces cas, le type et la quantité du solvant polaire présent dans le mélange seront tels que le solvant de la phase continue ait une polarité inférieure à celle d'un mélange 4:1 en poids de cyclohexane et de chloroforme.

L'utilisation d'un solvant sensiblement non-polaire, comme du cyclohexane seulement, comme phase continue limite la diffusion de protéine et permet que des capsules ayant des parois lisses résistantes soient formées dans un domaine étendu de température et de vitesse d'addition, de concentration et de nature des corps en réaction.

Il apparaît que la réaction de polymérisation est provoquée à l'interface entre la phase aqueuse et la phase continue de solvant, mais comme la diffusion de protéine est sévèrement limitée par la faible affinité du solvant sensiblement non-polaire pour ce groupe de substances, la polymérisation se produit dans la phase aqueuse. Il en résulte une surface extérieure lisse des capsules, de laquelle le solvant peut être facilement enlevé. De plus, on suppose aussi que comme le chlorure de sébacoyl et d'autres chlorures d'acide ont une faible perméabilité dans l'eau, la polymérisation est plus localisée à l'interface et est limitée par la diffusion de protéine dans la phase aqueuse à l'intérieur de la capsule.

Ainsi, la réticulation de la paroi est limitée à une zone étroite, donnant une structure plus résistante et moins fragile.

5 La protéine utilisée dans la réaction
est une protéine hydrophile, c'est-à-dire soluble
dans l'eau ou dispersable dans l'eau, contenant des
groupes amine libres. Quand la matière à encapsuler
est une matière alimentaire ou un ingrédient pour
10 matière alimentaire tel qu'un système aromatisant,
ou est un produit pharmaceutique, il est souhaitable
que la membrane soit biodégradable dans la bouche ou
dans l'estomac pour permettre que le contenu des
microcapsules soit libéré. Cela est obtenu dans la
présente invention parce que la protéine est hydro-
15 lysable ou dégradable autrement d'une manière telle
que les chaînes polymères formant la membrane se
rompent et que la membrane se désagrège.

La protéine utilisée dans le procédé
selon l'invention doit évidemment être capable de
20 former une phase aqueuse suffisamment stable pour
permettre que la phase aqueuse soit émulsionnée dans
le solvant non-polaire. A cet effet, la protéine
doit être hydrophile c'est-à-dire soluble dans l'eau
ou dispersable dans l'eau. De plus, pour que l'on
25 obtienne une structure réticulée satisfaisante autour
des gouttelettes d'émulsion, les molécules de protéine
dans la phase aqueuse émulsionnée doivent se trouver
le long de la surface des gouttelettes et il est donc
préférable que les protéines ne soient pas des protéines
30 purement globulaires dans lesquelles les molécules
sont sphériques. Il est possible d'utiliser dans le
procédé selon l'invention des protéines ayant une
structure sensiblement linéaire, c'est-à-dire des
protéines ayant des fragments plus ou moins sensi-
35 blement linéaires avec des fragments de protéine

globulaire attachés du moment qu'assez de groupes amine libres sont disponibles dans chaque molécule pour réaction. Bien que de préférence des protéines globulaires non traitées ne soient pas utilisées isolément dans le procédé selon la présente invention, elles peuvent être utilisées conjointement ou en mélange avec des protéines sensiblement linéaires, mais dans ce cas elles ne joueront normalement que peu de rôle, ou n'en joueront pas du tout, dans les réactions de formation des parois. Il est possible et souvent souhaitable d'utiliser dans le procédé des protéines globulaires modifiées qui ont été dénaturées ou dégradées de façon à décomposer au moins partiellement la structure d'amine tertiaire, causant ainsi une décomposition dans la structure globulaire entraînant un allongement de la molécule en fournissant des fragments linéaires et en fournissant des groupes amine libres pour réaction.

Les protéines utilisées dans le procédé selon l'invention sont de préférence des protéines existant dans la nature plutôt que des matières de synthèse du type protéique car en général les protéines naturelles sont plus facilement décomposées par activité enzymatique ou d'autres processus de biodégradation et leurs fractions sont normalement tolérées par les animaux vivants, tandis que les matières de synthèse du type protéique ne sont fréquemment pas biodégradables ou alors se décomposent pour donner des fragments toxiques ou nuisibles autrement ou pas susceptibles d'ingestion.

Pour que la protéine contienne des groupes amine libres pour réaction avec le deuxième composé, la protéine doit contenir une proportion relativement forte d'acides aminés contenant deux groupes amino, spécialement de lysine, d'arginine ou

d'histidine, ou contiennent de l'acide aspartique ou de l'acide glutamique sous la forme de leurs amides, c'est-à-dire de l'asparagine ou de la glutamine.

5

Il n'est pas essentiel que les matières protéiques utilisées dans la réaction soient composées de protéine pure et en fait, il est fréquemment avantageux que la protéine soit utilisée sous la forme d'un constituant d'un mélange complexe de matières existant dans la nature. Comme exemples de telles matières, on peut mentionner l'oeuf, le jaune d'oeuf, des oeufs de poissons, tels que des oeufs de morue, et certaines formes de petit-lait dénaturé.

10

15

Des exemples de protéines qui peuvent être utilisées dans le procédé selon l'invention, qui remplissent les conditions consistant à être hydrophiles et sensiblement linéaires ou qui peuvent être traitées pour être rendues hydrophiles et sensiblement linéaires, sont l'hémoglobine, des protamines comme la salmine, des histones comme l'histone du foie, la globuline et la bêta-lactoglobuline, des albumines comme l'alpha-lactalbumine, l'ovalbumine ou l'albumine du sérum, des glutélines, qui de préférence ont été dégradées, et des scléroprotéines solubilisées. Comme indiqué ci-dessus, la protéine peut être utilisée telle quelle ou comme constituant d'un mélange complexe contenant la protéine.

20

25

30

35

Comme exemples de protéines hydrophiles ou de mélanges contenant des protéines hydrophiles, on peut mentionner l'oeuf entier, le jaune d'oeuf, l'hémoglobine, le lait concentré gras, des petits laits dénaturés et les oeufs de morue. N'importe quelles protéines hydrophiles ayant assez de groupes NH_2 réactifs peuvent être utilisées dans la formation

d'une paroi de capsule. Des solutions et dispersions aqueuses de protéine ayant une teneur en protéine de 20 % en poids ou plus sont efficaces pour utilisation dans le procédé. Comme indiqué ci-dessus, une matière protéique qui n'est pas utilisable pour la réaction de formation de paroi peut être incluse dans la phase aqueuse à encapsuler, mais en général de telles protéines ne participeront pas à la réaction de formation de la paroi des capsules.

Quand une protéine comestible est encapsulée selon la présente invention, donc facilement pour produire des micro-capsules comestibles biodégradables, les microcapsules ont une utilité particulière comme nourriture pour entretenir la vie d'animaux aquatiques, tels que des poissons ou des crustacés ou leurs larves, pour dispersion dans l'eau contenant les animaux à nourrir.

Comme composé contenant des groupes amino réactifs, on utilise de préférence le chlorure d'acide ou l'anhydride d'un acide carboxylique di- ou polybasique, de préférence d'un acide dicarboxylique de C_4 à C_{14} , comme le chlorure d'acide sébacique, d'acide acipique, d'acide phtalique, d'acide téréphtalique ou d'acide succinique, ou d'un acide tricarboxylique, comme l'acide citrique. L'anhydride succinique peut être donné comme exemple d'un anhydride d'acide approprié.

On peut faire varier la grosseur des microcapsules entre de larges limites, suivant leur utilisation finale, en faisant varier la grosseur des gouttelettes dispersées de phase aqueuse contenant une amine. Ainsi, des capsules d'un diamètre compris entre 10 microns environ et 500 microns environ peuvent être préparées à volonté, en réglant le degré de dispersion de la phase aqueuse.

L'utilisation d'un agent tensio-actif est utile pour régler la grosseur des capsules durant la formation de l'émulsion et a aussi un effet sur la vitesse de formation des parois, probablement parce que cet agent favorise le contact entre la phase aqueuse et la phase de solvant. Comme agents tensio-actifs particulièrement utilisables, on peut mentionner des alcoyl-phénols sulfonés, tels que ceux vendus sous le nom commercial "Span 85", la lécithine et l'ester de glycéride d'acide lactique disponible dans le commerce sous la désignation "Lactodan". Un agent tensio-actif n'est pas essentiel dans le présent procédé, toutefois, et il peut être omis.

Pour l'opération de changement de phase, on laisse déposer les capsules et on élimine par décantation la phase de suspension en excès. Les capsules peuvent être lavées ensuite avec un liquide organique frais, spécialement du cyclohexane, pour élimination des traces d'agent tensio-actif, elles peuvent être séparées du solvant, par exemple par sédimentation ou centrifugation, et ensuite redispersées dans un liquide hydrophile comme de l'eau.

Durant l'opération de changement de phase, il est habituellement nécessaire que soit présente une matière ayant une activité de surface pour favoriser la dispersion des capsules dans la phase hydrophile, par exemple aqueuse. Quand les capsules sont prévues pour utilisation humaine ou animale, de préférence cet agent tensio-actif n'est pas un détergent, ce qu'on pensait antérieurement être nécessaire, parce que le détergent doit être finalement éliminé. Plutôt, la matière tensio-active peut être, par exemple, un colloïde protecteur comme de l'alcool polyvinylique ou de la gélatine, ou une matière telle que la lécithine, ou un ester d'un

glycéride, comme un ester d'acide lactique d'un monoglycéride. On a trouvé que de telles matières ou bien sont facilement éliminables ou bien n'ont pas besoin d'être éliminées. De plus, pour éviter
5 une rupture des capsules durant l'opération de changement de phase et par la suite, il est fréquemment souhaitable d'équilibrer la pression osmotique en ajoutant une substance dissoute à la phase de suspension. Cela peut être obtenu en utilisant de fortes
10 proportions d'agent tensio-actif ou, en l'absence d'agent tensio-actif, en ajoutant des quantités appropriées de substances inorganiques dissoutes.

Le procédé selon la présente invention est à peu près indépendant de la température et a été
15 mis en oeuvre dans un intervalle de température allant jusqu'à 40°C. Bien que les basses températures couramment utilisées dans la technique antérieure puissent aussi être utilisées avec le présent procédé, il est évidemment très commode de travailler à la température
20 ambiante. La polymérisation se produit plus rapidement à des températures plus élevées, mais comme le point final de la réaction est généralement déterminé par la non-disponibilité de corps en réaction, il y a peu d'avantage à utiliser des températures plus
25 élevées.

Le procédé selon l'invention présente un certain nombre d'avantages par rapport aux procédés de la technique antérieure pour la micro-encapsulation de diverses matières en solution aqueuse. Parmi ces
30 avantages, on peut mentionner :

a) une grande variété de matières du type protéique peuvent être encapsulées ou utilisées dans la formation des capsules sans la nécessité d'une
35 détermination et d'un réglage précis de la température ou d'une concentration et de vitesses d'addition

précises du chlorure d'acide ;

b) la concentration de la polymérisation dans la région de l'interface entre les phases produit une paroi qui est suffisamment robuste pour résister au séchage ;

c) le procédé permet d'exclure de la réaction tant les diamines très réactives à chaîne courte que le chloroforme, qui sont potentiellement toxiques ;

d) l'absence de diamines à chaîne courte permet la formation, par simple réticulation de protéine, de parois qui sont susceptibles de digestion enzymatique dans l'estomac ;

e) les capsules après lavage peuvent être séchées et rehydratées d'une manière satisfaisante sans agglomération, permettant ainsi un stockage illimité et une réduction du volume ;

f) les capsules sont stables pendant jusqu'à 6 mois, ou même plus longtemps, dans l'eau douce, une solution saline, et dans l'eau de mer naturelle pendant jusqu'à 9 jours ;

g) tandis que dans les procédés de la technique antérieure de grandes quantités de la phase continue ou de suspension étaient souvent nécessaires, par exemple jusqu'à un rapport de 12:1 en volume avec la phase discontinue ou suspendue, ce rapport peut être réduit à un niveau aussi bas que de 6:1 en utilisant la présente invention, par exemple quand la phase de suspension est du cyclohexane pur.

Bien que l'invention ait été décrite d'une manière générale avec référence seulement à l'encapsulation par polymérisation interfaciale faisant intervenir la formation d'un polyamide, on comprendra que d'autres réactions de polymérisation par condensation, par exemple des réactions de formation de

polyurée, se produiront à l'interface entre les deux phases d'une émulsion, et que le procédé selon l'invention est également applicable à un tel processus de polymérisation. Pour une réaction de formation de polyurée, un mélange de diisocyanate et d'un catalyseur tel qu'une alcanolamine, par exemple la diméthyléthanolamine, est utilisé comme constituant réactif avec les groupes amine. Le catalyseur sera normalement inclus dans la phase aqueuse.

On comprendra mieux la présente invention et ses nombreux avantages en se référant aux exemples particuliers suivants, donnés à titre d'illustration. Sauf indication contraire, toutes les parties indiquées dans les exemples sont des parties en volume et tous les pourcentages sont des pourcentages en poids.

Exemple 1

5 parties d'une solution aqueuse à 30 % en poids d'oeuf entier séché par pulvérisation sont émulsionnées dans 25 parties de cyclohexane auxquelles on a ajouté 2 % en poids de lécithine.

On forme l'émulsion en utilisant une hélice à deux pales, la durée de l'émulsionnement étant de 4 minutes et l'émulsion résultante étant constituée de gouttelettes de 50 à 100 microns de diamètre.

On ajoute de manière régulière à l'émulsion, en une période de 10 secondes, 0,15 partie de chlorure d'adipoyle dans 10 parties de cyclohexane. On continue la réaction pendant 10 minutes à 23,5°C.

On laisse déposer les capsules formées et on décante le cyclohexane. On lave ensuite les capsules deux fois avec 25 parties de cyclohexane et finalement avec 25 parties de cyclohexane conte-

nant 0,25 partie de lécithine. Après une sédimentation finale, qui demande 3 minutes environ, on décante tout le cyclohexane. On reprend ensuite les capsules dans 50 parties d'une solution aqueuse chaude à 15 % en poids de gélatine et on agite rapidement pendant 2 à 3 minutes. On ajoute ensuite 750 parties d'eau à 35°C environ, tout en agitant encore.

On obtient des capsules jaune pâle non-agglomérées ayant de 50 à 100 microns de diamètre. On sépare les capsules de l'eau sur un tamis en Nylon et on les sèche toute une nuit après lavage à l'eau pour éliminer la gélatine en excès. Les capsules séchées pourraient être rehydratées simplement par agitation dans l'eau chaude.

Exemple 2

5 parties d'une solution aqueuse à 20 % d'hémoglobine bovine contenant 0,015 partie de diméthyl éthanolamine sont émulsionnées dans 25 parties de cyclohexane contenant 1 partie de "Span 85" en utilisant une hélice à quatre pales, la durée de l'émulsionnement étant de 5 minutes et l'émulsion résultante étant constituée de gouttelettes de 5 à 100 microns de diamètre.

10 parties de cyclohexane contenant 0,5 partie de diphénylméthane-4,4'-diisocyanate sont ajoutées de manière régulière en une période de 20 secondes et on continue la réaction pendant 7 minutes à une température de 17°C.

On laisse déposer les microcapsules et on décante le cyclohexane. On lave ensuite les capsules deux fois avec 25 parties de cyclohexane.

Après sédimentation finale et décantation du solvant, on reprend les capsules dans 50 parties d'une solution aqueuse chaude à 15 % en poids de gélatine et on agite rapidement pendant

2 à 3 minutes. On ajoute ensuite 300 parties d'eau à 35°C environ tout en continuant l'agitation.

On obtient d'excellentes capsules rougeâtres tant avant qu'après séchage.

5 Exemples 3 à 17

On suit de manière générale le mode opératoire de l'exemple 1 en utilisant divers corps en réaction et diverses conditions de réaction comme indiqué dans le Tableau suivant. Dans chaque cas, on obtient d'excellentes capsules qui peuvent être séchées et réhydratées.

10

Exemple N°	Amine	Solvant	Agent tensio-actif	Emulsionnement	Acide	Temps de réaction T°C (min)	Lavage	Reprise dans	Dilution
3	Hb 3 parties 20 %	Cyclohex 25 par- ties	Span 85 8 %	4 pales 6 min. \swarrow 100-300 \swarrow	Seb. cl. 0,15 dans 10 cyclohex	8/17	2x15 cyclohex	50 pt. 15% gélatine	12:1
4	Hb 5 parties 30 %	Cyclohex 25 par- ties	Span 85 8 %	2 pales 15 min. \swarrow 10-500 \swarrow	Seb. cl. 0,15 dans 10 cyclohex	10/26,5	3x12,5 cyclohex	50 pt. 15% gélatine	10:1
5	Hb 5 parties 20 %	Cyclohex 25 par- ties	Span 85 8 %	4 pales 10 min. \swarrow 50-150 \swarrow	Seb. cl. 0,15 dans cyclohex	10/40	1x25 1x50 cyclohex + 0,5 % Span 85	25 pt. 15% gélatine	12:1
6	Hb 5 parties 20 %	Cyclohex 25 par- ties	Lécithine 1 %	2 pales 15 min. \swarrow 50-150 \swarrow	Seb. cl. 0,15 dans 10 cyclohex	10/26	3x12,5 cyclohex	50 pt. 15% gélatine	2:1
7	Hb 5 parties 20 %	Cyclohex 25 par- ties	Lécithine 0,5 %	2 pales 15 min. \swarrow 100-200 \swarrow	Add. cl. 0,05 dans 10 cyclohex	4/27	3x12,5 cyclohex	50 pt. 15% gélatine	4:1
8	Hb 5 parties 20 %	Cyclohex 25 par- ties	Lécithine 0,5 %	2 pales 5 min. \swarrow 150-300 \swarrow	Succ. cl. 0,15 dans 10 cyclohex	13/24	3x12,5 cyclohex	50 pt. 15% gélatine	4:1

Exemple N°	Amine	Solvant	agent tensio-actif	Emulsionnement	Acide	Temps de réaction T°C (min)	Lavage	Reprise dans	Dilution
9	Hb 5 parties 20 %	Cyclohex 25 par- ties	Lécithine 0,5 %	4 pales 15 min. 100-300/4	Tereph. cl. 0,75 dans 10 cyclohex	15/23,5	2x12,5 cyclohex	50 pt. 15% gélatine	4:1
10	Hb 5 parties 20 %	Cyclohex 25 par- ties	Lactadan LR 0,2 %	4 pales 8 min. 50-100/4	Succ. cl.	4/23	1 x 25 cyclohex 1 x 25 cyclohex + 0,5 % Lécithine	50 pt. 15% Gélatine	20:1
11	Hb 5 parties 20 %	Cyclohex 25 par- ties	Span 85 4 %	4 pales 5 min. 50-150/4	Succ. anh. 0,125 dans 5 cyclo- hex + 5 Chl.	15/18	2 x 25 cyclohex	50 pt. 15% gélatine	6:1
12	Hb oeuf entier (3:1) 5 par- ties 20 %	Cyclohex 25 par- ties	Span 85 4 %	2 pales 15 min. 50-150/4	Seb. cl. 0,15 dans 10 cyclohex	15/28	4x12,5 cyclohex	50 pt. 5% gélatine	4:1

Exemple n°	Amine	Solvant	agent tensio-actif	Emulsification	Acide	Temps de réaction T°C (min)	Lavage	Reprise dans	Dilution
13	oeuf entier 5 par- ties 30 %	Cyclohex 25 par- ties	Lécithine 2 %	2 pales 5 min. 30-100/4	Seb. cl. 0,15 dans 10 cyclohex	12/23,5	2x25 cyclohex 1x25 cyclohex + 0,5 % Lécithine	50 pt. 15 % gélatine	20:1
14	oeuf entier 5 par- ties 30 %	Cyclohex 25 par- ties	Lécithine 2 %	2 pales 6 min. 30-100/4	Succ. cl. 0,15 dans 10 cyclohex	8/23,5	2x25 cyclohex 1x25 cyclohex + 0,5 % Lécithine	50 pt. 15 % gélatine	4:1
15	hb. 5 par- ties 20 %	Cyclohex 25 par- ties	Lécithine 0,5 %	4 pales 15 min. 50-150/4	Succ. cl. 0,25 dans 10 cyclohex	15/23,5	Cyclohexane décanté pour laisser 25 parties ; ver- sé dans 250 parties d'eau à 20 % de NaCl		
16	Hb 5 par- ties 20 %	40/60 pet. ether 25 par- ties	Span 85 4 %	4 pales 2 min. 50-150/4	Succ. cl. 0,1 dans 10 Pet. ether	5/19	1x25 pet. ether + 2 % span	50 pt. 15 % gélatine	6:1
17	Lait concen- tré gras 5 parties 66 %	n-décane 25 par- ties	Span 85 4 %	4 pales 2 min. 50-150/4	Succ. cl. 0,1 dans 10 décane	3/19	2x25 décane + 2 % span	50 pt. 15 %	6:1

Hb = hémoglobine bovine
Cyclohex = cyclohexane
Seb. cl. = Chlorure de Sébacoyl
Add. cl. = chlorure d'adipoyle
5 Succ. cl. = chlorure de succinoyle
Tereph. cl. = chlorure de téréphthaloyle
Succ. Anh. = Anhydride Succinique
Chl. = Chloroforme

Exemple 18

10 100 grammes d'oeufs de morue congelés
sont décongelés et homogénéisés en utilisant un tube
et un plongeur. On fait passer le mélange résultant
à travers un tamis en Nylon de 0,5 mm et on le mélange
avec 5 cm³ de glycérol. Le poids total de matière
15 recueilli est de 63 grammes. On place cette matière
dans un b cher de 500 cm³, on ajoute 250 cm³ de
cyclohexane et 0,5 % de lécithine d'oeuf et on homo-
g n ise le mélange en utilisant un agitateur à grande
vitesse pendant 10 minutes de manière à produire une
20  mulsion ayant une grosseur de gouttelettes de 50 à
150  . On ajoute 1,5 gramme de chlorure de succinoyle
dans 80 cm³ de cyclohexane et on continue la réaction
pendant 8 minutes. On laisse déposer les capsules et
on décante le cyclohexane. On lave ensuite les capsu-
25 les quatre fois avec chaque fois 50 cm³ de cyclohexane
et on continue ensuite le traitement comme dans l'exem-
ple 1.

REVENDECATIONS

1 - Un procédé pour préparer des micro-capsules contenant une solution aqueuse d'une protéine hydrophile contenant une multiplicité de groupes amine libres, caractérisé en ce qu'on forme une émulsion de la solution aqueuse comme phase dispersée dans un liquide qui est un non-solvant pour la protéine et qui est sensiblement non-polaire ou qui a une polarité inférieure à celle d'un mélange 4:1 en poids de cyclohexane et de chloroforme comme phase continue, et on ajoute à l'émulsion résultante une solution d'un composé contenant une multiplicité de groupes capables de réagir avec les groupes amine pour former un polymère de manière qu'une réaction de polymérisation par condensation interfaciale se produise entre la protéine et ledit composé pour former des microcapsules avec une paroi constituée à peu près complètement de protéine réticulée.

2 - Un procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la protéine est une protéine ayant une structure sensiblement linéaire.

3 - Un procédé selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce que la protéine est une protéine globulaire et a été modifiée par destruction, au moins partielle, de sa structure d'amine tertiaire.

4 - Un procédé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que la protéine est une protéine existant dans la nature.

5 - Un procédé selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que la protéine contient une proportion relativement forte d'acides aminés contenant deux groupes amine ou contient au moins certains acides aminés sous la forme de leurs amides.

- 6 - Un procédé selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que la protéine est présente sous la forme d'un constituant d'un mélange complexe de matières existant dans la nature.
- 5 7 - Un procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que le mélange est de l'oeuf, du jaune d'oeuf, du petit-lait dénaturé, du lait concentré gras ou de l'oeuf de poisson.
- 10 8 - Un procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que l'oeuf de poisson est de l'oeuf de morue.
- 9 - Un procédé selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que la protéine est de l'hémoglobine.
- 15 10 - Un procédé selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisé en ce que la phase aqueuse encapsulée, en plus de la protéine, ou de la matière contenant de la protéine, contient d'autres constituants qui ne participent pas à la réaction de polymérisation.
- 20 11 - Un procédé selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisé en ce que la solution aqueuse de protéine a une concentration d'au moins 20% en poids.
- 25 12 - Un procédé selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que le composé qu'on fait réagir avec la protéine est un chlorure d'acide ou un anhydride d'acide ou un acide carboxylique di- ou poly-basique.
- 30 13 - Un procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce que le composé est du chlorure de sébacoylé, du chlorure d'adipoylé, du chlorure de téréphthaloylé ou de l'anhydride succinique.
- 35 14 - Un procédé selon l'une des revendications 1 à 13, caractérisé en ce que le composé est un polyisocyanate et que la solution aqueuse de la pro-

téine contient aussi un catalyseur pour une réaction de formation de polyurée.

5 15 - Un procédé selon la revendication 14, caractérisé en ce que le polyisocyanate est du di-phényléthane diisocyanate.

16 - Un procédé selon l'une des revendications 14 et 15, caractérisé en ce que le catalyseur est la diméthyl éthanolamine.

10 17 - Un procédé selon l'une des revendications 1 à 16, caractérisé en ce que le liquide de la phase continue est du cyclohexane, du n-décane ou de l'éther de pétrole 40/60.

15 18 - Un procédé selon l'une des revendications 1 à 17, caractérisé en ce qu'après la fin de la réaction, les capsules sont séparées de la phase continue et dispersées dans de l'eau.

20 19 - Un procédé selon la revendication 18, caractérisé en ce qu'un composé ayant une activité de surface est présent pour favoriser la dispersion dans l'eau.

20 - Un procédé selon la revendication 19, caractérisé en ce que la matière ayant une activité de surface est un composé non-détergent.

25 21 - Un procédé selon la revendication 20, caractérisé en ce que la matière ayant une activité de surface est un colloïde protecteur.

22 - Un procédé selon la revendication 21, caractérisé en ce que le colloïde protecteur est de l'alcool polyvinylique ou de la gélatine.

30 23 - Un procédé selon la revendication 20, caractérisé en ce que l'agent tensio-actif est de la lécithine ou un ester d'un glycéride.

35 24 - Un procédé selon l'une des revendications 18 à 23, caractérisé en ce qu'une substance dissoute est présente dans l'eau en quantité suffisante pour équilibrer la pression osmotique à l'intérieur et à l'exté-

rieur des capsules.

25 - Les microcapsules ayant une paroi de protéine réticulée produites par un procédé selon l'une des revendications 1 à 24.